

## PRODUKSI ETANOL DARI JERAMI PADI MELALUI HIDROLISA ENZIMATIK DAN FERMENTASI

**Fransisca Thresia, Silvia Eka Ristikasari, Gunawan Hartanto, Arief Widjaja \*)**

Laboratorium Teknologi Biokimia Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya  
Kampus ITS Sukolilo Surabaya 60111 Indonesia

email: [lembutf@yahoo.com](mailto:lembutf@yahoo.com)

\*)corresponding author : [arief\\_w@chem-eng.its.ac.id](mailto:arief_w@chem-eng.its.ac.id)

### Abstrak

Penggunaan bahan bakar fosil menimbulkan banyak kerugian karena tidak dapat diperbarui, karena itu penemuan sumber energi baru yang dapat diperbarui sangat dibutuhkan untuk memenuhi kebutuhan energi dunia yang semakin meningkat. Salah satu sumber energi yang potensial menggantikan bahan bakar fosil adalah etanol. Salah satu upaya mencari bahan baku dalam produksi bioetanol adalah menggunakan limbah pertanian yang dapat dikonversi menjadi glukosa. Salah satu alternatif limbah pertanian yang mengandung selulosa adalah jerami padi.

Tujuan dari penelitian ini adalah menghasilkan etanol dari jerami padi melalui hidrolisa enzimatik dan fermentasi. Enzim selulase digunakan untuk mendegradasi selulosa dari jerami padi sehingga menghasilkan glukosa.

Pada proses penelitian ini dibagi menjadi 3 tahap, yaitu tahap pretreatment, tahap hidrolisa dan tahap fermentasi. Pada tahap pretreatment digunakan NaOH dengan konsentrasi 1%, 60°C, 8jam. Tahap hidrolisa dilakukan pada suhu 60°C dengan pH 3 dengan konsentrasi enzim selulase dari *Aspergillus niger* sebesar 93U/5 gr jerami padi. Aktivitas enzim selulase sebesar 2,00 U/ml sedangkan xilanase sebesar 1,8 U/ml diperoleh dari enzim komersial dari *Aspergillus niger*. Hidrolisat yang dihasilkan memperoleh yield gula reduksi tertinggi sebesar 0.39gr gula/gr jerami padi.

Fermentasi glukosa menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dilakukan dalam erlenmeyer flashk 200 ml pada pH 5.5 suhu 30°C serta aerasi menggunakan inkubator shaker pada 100 rpm dan konsentrasi gula reduksi sebesar 8g/L. Uji kadar gula reduksi menggunakan metode DNS. Kadar selulosa jerami padi diperoleh sebesar 54.133% menggunakan metode Chesson. Sedangkan fermentasi untuk menghasilkan etanol mencapai yield sebesar 0.17mol etanol/mol gula reduksi.

**Kata kunci :** jerami padi, pretreatment, hidrolisa, fermentasi, *Saccharomyces cerevisiae*, etanol.

### 1. PENDAHULUAN

Penggunaan bahan bakar fosil menimbulkan banyak kerugian dalam pencemaran lingkungan. Disamping itu, bahan bakar berbasis fosil tidak dapat diperbarui, karena itu penemuan sumber energi baru yang dapat diperbarui sangat dibutuhkan untuk memenuhi kebutuhan energi dunia yang semakin meningkat. Salah satu sumber energi yang potensial menggantikan bahan bakar fosil adalah etanol.

Salah satu upaya mencari bahan baku dalam produksi bioetanol adalah menggunakan limbah pertanian yang dapat dikonversi menjadi glukosa. Salah satu alternatif limbah pertanian yang mengandung selulosa adalah jerami padi (Aderami dkk.,2008). Jerami padi merupakan limbah yang mengandung 43,38% selulosa; 24,73% hemiselulosa; 9,67% lignin (Anwar, 2011). Jerami padi dapat dihidrolisis baik secara kimiawi maupun secara biologi untuk menghasilkan glukosa. Glukosa yang diperoleh dari proses hidrolisis dapat difermentasi lebih lanjut untuk menghasilkan etanol (Martin dkk., 2002).

Sejauh ini telah dikenal enzim-enzim yang dapat mendegradasi selulosa, diantaranya yang paling utama yaitu enzim selulase (Fengel dan Wegerner, 1984). Enzim selulase merupakan enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme seperti fungi dan bakteri. Enzim selulase dapat mendegradasi selulosa menjadi molekul glukosa yang lebih kecil (Nicol et al, 2006).

Dari penelitian ini diharapkan dapat diperoleh suatu metode baru dalam pengadaan sumber energi terbarukan yaitu dengan memanfaatkan selulosa yang jumlahnya melimpah di alam melalui konversi

enzimatis menjadi monomer glukosa oleh enzim selulase diikuti fermentasi glukosa menjadi etanol dengan bantuan yeast *Saccharomyces cerevisiae*.

Tujuan dari penelitian ini adalah menghasilkan etanol dari jerami padi melalui hidrolisa enzimatis dan fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* yang bermanfaat sebagai energi alternatif pengganti dari bahan bakar fosil. Dari penelitian terdahulu yang ditulis Golias menyebutkan bahwa suhu optimum untuk hidrolisis adalah 40-50°C dan di dalam produksi etanol menghasilkan yield sebesar 0.3g/g substrat, sedangkan menurut M. Minner dan G. Gomma yield produksi etanol menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* mencapai 0.35g/g substrat.

## 2. METODOLOGI

### 2.1 Pretreatment jerami padi

Pretreatment dilakukan secara fisika dan kimia. Pretreatment fisika dilakukan dengan pemotongan jerami padi sepanjang  $\pm 5$  mm menggunakan pemotong kertas kemudian menggiling jerami padi hingga mendapatkan ukuran 100 – 120 mesh. Pretreatment secara kimia dilakukan dengan pemanasan jerami padi bersama larutan NaOH 1% pada temperatur 60 °C selama 8 jam dalam labu erlenmeyer yang dilengkapi dengan kondensor refluks, kemudian dicuci dengan air kran sampai netral dan terakhir dicuci menggunakan aquades. Jerami dipisahkan menggunakan penyaring kain kemudian dikeringkan pada 100°C selama kurang lebih 2 jam.

### 2.2 Produksi enzim selulase

Substrat yang digunakan untuk produksi enzim yaitu jerami padi ukuran 100-120 mesh sebanyak 5 gram dan menambahkan larutan garam mineral sebanyak 25 ml ke dalam erlenmeyer kemudian mensterilisasi media tersebut ke dalam autoklaf. Selanjutnya menginokulasi masing – masing jamur *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* ke dalam erlenmeyer lalu menginkubasikannya selama 7 hari. Selanjutnya Menambahkan 100 ml buffer sitrat yang mengandung 0,1 % Tween 80 kemudian mengocok dengan orbital shaker pada 175 rpm selama 135 menit selanjutnya mensentrifuge dengan kecepatan 10000 rpm selama 30 menit kemudian mengambil cairan yang didalamnya terdapat enzim selulase. Kemudian menghitung aktifitas enzim dengan menggunakan DNS.

### 2.3 Hidrolisis jerami padi

Setelah didapatkan jerami padi yang telah dipretreatment selanjutnya dilakukan proses hidrolisis yaitu dengan menimbang jerami padi tersebut sebanyak 5 gram kemudian menambahkan enzim selulase dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* sesuai perbandingan dan konsentrasi enzim yang telah ditentukan. Kemudian dipanaskan dengan suhu 60°C dan pH 3. Selanjutnya menganalisa konsentrasi gula reduksi dalam hidrolisat dengan metode DNS dengan panjang gelombang 540nm setiap selang waktu 3 jam sekali.

### 2.4 Fermentasi glukosa

Setelah didapatkan hidrolisat sebanyak 200 ml dari proses hidrolisis selanjutnya dilakukam proses fermentasi dengan cara menambahkan yeast extract 0,4 %,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,17 gram,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0,85 gram dan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2,125 gram ke dalam hidrolisat. Selanjutnya mensterilisasi media fermentasi tersebut ke dalam autoklaf. Setelah media mencapai suhu ruangan, melakukan fermentasi dengan volume media sebesar 200mL yang sebelumnya dilakukan aklimatisasi *Saccharomyces cerevisiae* dengan volume cairan sebesar 20mL yang diambil dari media. Selanjutnya menginokulasikan 20mL biakan tersebut ke dalam 180mL substrat. Fermentasi dilakukan selama 48 jam dan pengambilan sampel dilakukan selang waktu 24 jam. Kemudian melakukan pengukuran kadar gula reduksi dan jumlah sel dengan menggunakan metode DNS serta kadar etanol menggunakan GC.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1 Pretreatment jerami padi

Setelah dilakukan pretreatment, jerami padi tersebut dianalisa dengan menggunakan metode chesson untuk mengetahui kadar selulosa, hemiselulosa dan lignin yang dapat digambarkan pada tabel sebagai berikut

Tabel I : Hasil analisa metode Chesson

Variabel	Kadar (%)		
	hemiselulosa	selulosa	lignin
Sebelum pretreatment	31.498	47.627	15.275
1%; 60°C; 8 jam	36.228	54.133	9.4289

Dari penelitian terdahulu didapatkan hasil bahwa pada kondisi NaOH 1% menggunakan suhu 60°C selama 8 jam didapatkan konsentrasi glukosa tertinggi pada hidrolisis, sehingga pada penelitian ini menggunakan kondisi yang sama pada pretreatment.

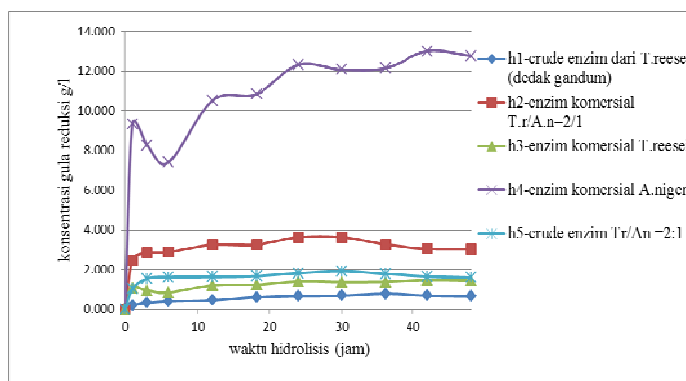
### 3.2 Produksi enzim selulase

Setelah mendapatkan enzim, maka proses selanjutnya adalah pengujian enzim selulase. Pengujian enzim selulase ini adalah dengan cara mengukur aktifitas enzim selulase yang dihasilkan. Sebelum mengukur aktifitas enzim selulase maka harus membuat kurva standar glukosa yang digunakan untuk menguji aktifitas enzim. Setelah membuat kurva standar glukosa, maka langkah selanjutnya adalah menguji keaktifan enzim. Menguji keaktifan enzim dapat dilakukan dengan metode DNS dan mengukur absorbansinya dengan panjang gelombang 540 nm.

Dari hasil pengukuran didapatkan aktivitas enzim selulase sebesar 2,0 IU/mL dan untuk enzim xilanase sebesar 1,8 IU/mL. Hasil ini diperoleh dari enzim murni dari *Aspergillus niger*.

### 3.3 Hidrolisis jerami padi

Sebelum melakukan hidrolisis jerami padi, yang harus dilakukan terlebih dahulu adalah membuat kurva standar glukosa untuk menganalisa konsentrasi glukosa dari hasil hidrolisis. Jerami yang dipakai adalah jerami padi hasil pretreatment dengan NaOH 1% selama 8 jam. Perlunya dilakukan pretreatment untuk mendegradasi lignin sehingga mempermudah dalam melakukan degradasi jerami padi secara enzimatik untuk mencapai selulosa. Hidrolisis dilakukan pada kondisi pH 3 dan suhu 60°C. Setelah mendapatkan konsentrasi gula reduksi pada selang waktu 3 jam sekali, kemudian dibuat grafik hidrolisis sebagai berikut

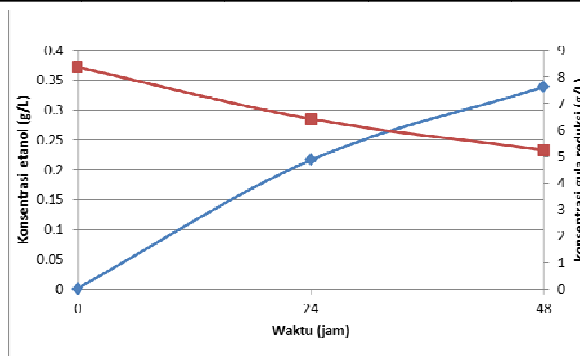


Gambar 1 : Konsentrasi gula reduksi oleh berbagai jenis enzim pada hidrolisis jerami padi

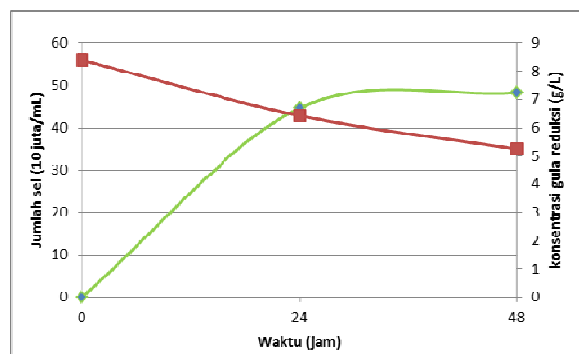
Berdasarkan grafik di atas memperlihatkan gula reduksi yang dihasilkan pada hidrolisis menggunakan campuran crude enzim dan enzim komersial. Hasil yang baik untuk hidrolisis pada jerami padi menggunakan enzim selulase komersial dari *Aspergillus niger* yang mencapai 13,02g/L selama 42 jam diperoleh yield sebesar 0,39gr gula/gr jerami padi. Dari hasil analisa, gula reduksi yang dihasilkan semakin lama semakin meningkat dengan kondisi yang stabil. Hal ini menunjukkan bahwa campuran enzim komersial dari *Aspergillus niger* memiliki komposisi endoglukanase, eksoglukanase dan  $\beta$ -glukosidase yang lebih seimbang untuk mendegradasi selulosa dalam jerami padi, dibandingkan dengan crude enzim.

### 3.4 Fermentasi glukosa

Setelah melakukan hidrolisis, maka selanjutnya adalah melakukan fermentasi hidrolisat yang diperoleh. Hidrolisat yang digunakan untuk proses fermentasi adalah hidrolisat dari jerami padi hasil pretreatment dengan konsentrasi NaOH 1% pada suhu 60°C selama 8 jam dengan kondisi hidrolisis pada suhu 60°C dan pH 3. Kondisi fermentasi yang dipakai adalah pH 5,5 dan suhu 30°C. Dari pengukuran gula reduksi, didapatkan konsentrasi gula reduksi awal sebesar 8gr/L dan hasil fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* didapatkan hasil yield etanol sebesar 0,17mol etanol/mol gula reduksi. Pada gambar 2 menunjukkan adanya penurunan gula reduksi yang seiring dengan penambahan konsentrasi etanol. Hal ini terjadi karena adanya konsumsi gula oleh mikroorganisme yang menyebabkan penurunan gula reduksi dan terbentuknya etanol. Sedangkan pada gambar 3 menunjukkan adanya penurunan konsentrasi gula reduksi yang disertai dengan penambahan jumlah sel.



Gambar 2 : Konsentrasi etanol dan gula reduksi hasil fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*



Gambar 3 : Konsentrasi gula reduksi dan jumlah sel hasil fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*

#### 4. KESIMPULAN

1. Suhu optimal *pretreatment* yang didapatkan adalah 60 °C
2. Konsentrasi optimal NaOH yang didapatkan adalah 1%
3. Waktu optimal *pretreatment* adalah 8 jam
4. Aktivitas enzim selulase dari *Aspergillus niger* sebesar 2,0 U/ml
5. Enzim selulase komersial *A. niger* yang dihasilkan pada percobaan ini lebih efektif mendegradasi jerami padi menjadi glukosa dibandingkan dengan crude enzim.
6. Kondisi optimal untuk hidrolisa adalah pada suhu 60 °C dan pH 3.
7. Yield etanol hasil fermentasi sebesar 0,17 mol etanol/mol gula reduksi.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Aderemi, B. O, Abu E, Highina B. K, (2008), “ The kinetics of glucose production from rice straw by *Aspergillus niger*” African Journal of Biotechnology, 7, 1745-1752.
2. Balat, M, Balat Havva, Oz Cahide, (2008), “ Progress in bioethanol processing”, 34, 551 – 573.
3. Committee on Science, Engineering, and Public Policy, (1991), “Policy Implications of Greenhouse warming”, National Academy of Sciences, National Academy of Engineering, Institute of Medicine, National Academy press, Washington DC.
4. Delgenes J.P., Moletta R, Navarro J.M., (1996), “ Effect of lignocellulosic degradation product on ethanol fermentation of glucose and xylose by *Saccharomyces cerevisiae*, *Zymomonas mobilis*, *Pichia stipitis* and *Candida shehatae* “, Enzyme Microbial Technology 19: 220-225.
5. Fengel, D dan Wegerner, G. (1984), “Kayu: Kimia, Ultrastruktur, Reaksi-reaksi”, Gajah Mada University Press, Yogyakarta, hal. 30-34, 155-176.
6. Gawande, P.V dan Kamat, M.Y., (1999), “Production of *Aspergillus Xylanase* by Lignocellulosic Waste Fermentation and its Application”, J. of Applied Microbiology, 87, 511 – 519.
7. Jeffries, W, Grigoriev, V, Laplaza, M, (2007), “Genome sequence of the lignocelluloses-bioconverting and Xylose-Fermenting Yeast *Pichia stipitis*”, 25, 319-326.



8. Martin C, Galbe M, Wahlbom F.C, (2002), “Ethanol production from enzymatic hydrolysates of sugarcane bagasse using recombinant xylose-utilising *Saccharomyces cerevisiae*”, 31, 274 – 282.
9. Miller, G.L., (1959), “Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar”, *Analytical Chemistry*, 31, 426-428.
10. Nakamura, Y. dan Sawada, T., (1997), “Lignin Peroxidase Production by *Phanerochaete chrysosporium* Immobilized on Polyurethane Foam”, *Journal Chemical Engineering Japan*, 30, 1- 6.
11. Nigam, J.N., (2001), “ Ethanol production from wheat straw hemicelluloses hydrolysate by *Pichia stipitis*”, *Journal of Technology* 87: 17-27.
12. Subramaniyan, S. dan Prema, P., (2002), “Biotechnology of Microbial Xylanases: Enzymology”, *Molecular biology*, Sunggyu, L., Speight, J.G., dan Loyalka, S.K., (2007).
13. Taniguchi, M., Tohma, T., Itaya, T. and Fujii, M., (1997), ”Ethanol Production from a Mixture of Glucose and Xylose by Co-Culture of *Pichia stipitis* and a Respiratory-Deficient Mutant of *Saccharomyces cerevisiae*”, *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 83, 364-370.